Freiburg i. Br. 1965

Dieter Sigrist

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br.
Direktor: Professor Dr. Dr. h. c. L. Heilmeyer

Serologische Untersuchungen zur Diagnose des Morbus haemolyticus neonatorum im ABO-System

INAUGURAL-DISSERTATION

zur
Erlangung der Zahnmedizinischen Doktorwürde
einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg i. Br.

vorgelegt von
Dieter Sigrist
geboren in Achern (Baden)

1965

Dekan: Professor Dr. K. W. Kalkoff

Referent: Professor Dr. Dr. h. c. L. Heilmeyer

Inhalt

Serologische Untersuchungen zur Diagnose des Morbus haemolyticus neonatorum im ABO-System

Die Neugeborenen-Erythroblastose, besonders die des ABO-Systems, hat viele klinische und theoretische Probleme aufgeworfen, die z. T. heute noch nicht gelöst sind. Die Bezeichnung Erythroblastose ist noch nicht sehr alt und eingehende Untersuchungen dieses Krankheitsbildes wurden erst in den letzten Jahrzehnten vorgenommen.

Als erster stellte RAUTMANN (1912) das Auftreten von Erythroblasten im peripheren Blut bei der Beschreibung eines Falles von allgemeiner Wassersucht beim Neugeborenen in den Vordergrund und bezeichnete dieses Krankheitsbild als Erythroblastose. Auf die Symptomatik der Erythroblastenvermehrung wiesen auch v. GIERKE (1931 und 1933) bei Icterus gravis neonatorum sowie LEHNDORFF (1937) bei Anaemia neonatorum hin. Diese drei Krankheitsformen:

1. Anaemia neonatorum
2. Icterus gravis neonatorum
3. Hydrops universalis congenitus

werden heute unter dem Begriff der Neugeborenen-Erythroblastose zusammengefaßt. DIAMOND, BLACKFAN und BATY (1932) haben diese 3 Krankheitsbilder als den Ausdruck eines einzigen, damals noch unbekannten, pathologischen Geschehens gedeutet. Nach Ansicht von MORHARDT (1947) soll auch die angeborene cystische Pancreasfibrose in den Kreis der erythroblastotischen Erkrankungen gehören.

Das Wesentliche bei der fetalen Erythroblastose ist eine Antigen-Antikörperreaktion durch mütterliche diaplacentar übergetretene Antikörper mit entsprechenden Antigenen des Kindes. Hierbei kommt es zu einem vermehrten Untergang kindlicher Erythrocyten. Dieser gesteigerte Erythrocytenzerfall ist die Ursache für alle weiteren pathologischen Veränderungen im Verlauf einer Erythroblastose. Die Antikörper treten dabei im Rhesus- oder ABO-System, seltener in anderen Blutgruppensystemen auf. Voraussetzung für die Bildung der Antikörper ist der Übertritt von Antigenen des Föten auf die Mutter (siehe unten) oder eine vorausgegangene Sensibilisierung (frühere Schwangerschaft, Fehltransfusion, Blutinjektion).

Ein vermehrtes Auftreten von Erythroblasten im peripheren Blut des Kindes als Zeichen einer kompensierenden Erythrocytenneubildung ist nicht unbedingt erforderlich und tritt nicht in allen Fällen von Erythroblastose auf. Deshalb wird von einer Reihe von Autoren für das Krankheitsbild der Ausdruck „Morbus haemolyticus neonatorum" bevorzugt, der von DIAMOND, BLACKFAN und BATY (1932) vorgeschlagen wurde. Bestimmungen der Erythroblastenzahl beim Neugeborenen wurden neben anderen von BOROVICZENY durchgeführt (BOROVICZENY und BALLO, 1957). Die hervorstechenden Symptome einer Erythroblastose sind: Hohe Bilirubinwerte mit frühzeitiger und ausgeprägter Gelbsucht, Leber- und Milzschwellungen, Ödeme verschiedenen Grades, Haut-, Schleimhaut- und Organblutungen. Im peripheren Blut können auftreten: Anaemie, Reticulocytaemie, Erythroblastaemie, Mikrosphärocytose. Mitunter werden auch cerebrale Reizerscheinungen beobachtet wie Somnolenz, Adynamie oder Hypertonus, Opisthotonus, Krämpfe; in schweren Fällen kann ein Kernikterus (SCHMORL, 1904) eintreten. Der Kernikterus (toxische Bilirubinschädigung der Stammganglienkerne) ist bei Überleben oft mit Spätfolgen wie schweren extrapyramidalen Störungen oder hochgradigen Intelligenzdefekten verbunden (KÜNZER, 1959).

Eine ausführliche Darstellung der pathologischen und pathogenetischen Vorgänge wurde kürzlich von KEPP und OEHLERT (1963) publiziert.

Die ABO-Erythroblastose tritt häufiger auf, als man zunächst annahm. Jedoch weichen die Angaben über die Häufigkeit sehr stark voneinander ab. Die angegebenen Zahlen schwanken zwischen 0,3 - 1,4 % aller Geburten. Die ABO-Erythroblastose kommt nach VALENTINE (1958) bei 1,4 % der Neugeborenen vor, nach HABERMANN und Mitarbeitern (1960) bei 0,83 %, nach FISCHER (1961) bei 0,68 %, nach ADELMANN und Mitarbeitern (1959) bei 0,31 %. Die erheblichen Abweichungen bei diesen Angaben sind vorwiegend auf die Schwierigkeiten in der serologischen Diagnostik, in der schwierigen Abgrenzung gegenüber ähnlichen Erkrankungen aus anderer Ursache und auf die ungleichmäßige Erfassung der Krankheit in verschiedenen Gegenden zurückzuführen. So werden in ländlichen Gegenden oft nur klinisch schwere Fälle erfaßt, während in Großstädten die diagnostischen Möglichkeiten günstiger liegen. Es wird auch die Möglichkeit einer echten Zunahme der Erkrankungen an ABO-Erythroblastose diskutiert. So soll die häufigere Anwendung von AB-Substanzen in Impfstoffen zu einem vermehrten Auftreten von Antikörpern und damit von ABO-Erythroblastose führen (ZOLLINGER, 1956).

Über die Unterschiede zwischen Rh-bedingter und ABO-bedingter Erythroblastose haben WÖLLNER und PLÜCKTHUN (1958) eine sehr ausführliche Arbeit veröffentlicht. Auszüge aus der Gegenüberstellung von Rh-bedingter und ABO-bedingter Erythroblastose von WÖLLNER und PLÜCKTHUN seien z. T. modifiziert hier wiedergegeben.

Unterschiede in Bedingungen, Umständen und Erscheinungen der ABO-bedingten und der Rh-bedingten haemolytischen Erkrankung des Neugeborenen:

	ABO	Rh
Anaemie	meist gering bis fehlend	frühzeitig, häufiger ausgeprägt bis extrem
Icterus	später als bei Rh, mäßig bis stark	meist frühzeitig und schwer
Neigung zu Kernicterus	relativ gering	groß
Hydrops universalis	kommt praktisch nicht vor	nicht selten
Hepatosplenomegalie	meist gering bis fehlend	gewöhnlich deutlich vorhanden
Erythrocytenausstrich	meist Mikrosphäro-cytose	eher Makrocytose
Osmot. Resistenz der Erythrocyten	öfter herabgesetzt	gewöhnlich normal
Blutgruppenverteil. bei den Müttern	überwiegend Gruppe 0	seltener O-Mütter als zu erwarten
Hämolysine des mütterl. Serums gegen die Blutgruppeneigen-schaft des Kindes	vorhanden	fehlen
A-, B-, bzw. Rh-Faktor in Gewebszellen	vorhanden	fehlt
Coombstest an den kindl. Erythrocyten	häufiger negativ, selten schwach pos. (ev. nur am 1. bzw. 2. Tag)	häufiger und länger stark positiv

	ABO	Rh
Unverträgl. agglutinierende und inkomplette Isoantikörper im Serum der Mutter	normaler Befund	stets pathologisch
Ihre diagnostische Bedeutung	Quantitatives u. qualitatives Verhalten bedingt verwertbar	entsprechen mit hoher Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung des Rh-Kindes
Freie, unverträgl. Isoantikörper im kindl. Serum	werden auch bei gesunden Kindern beobachtet; ihre hauptsächlich in den ersten 3 Tagen nachweisbare inkompl. Form ev. von Bedeutung	entsprechen mit hoher Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung

Erythroblastosen wurden, wenn auch selten, in anderen Blutgruppensystemen beobachtet, so bei Kell, MNSs, Kidd, Duffy, P, Jay sowie bei „private family antigens" (Individualantigene). Fälle von Erythroblastose bei Tieren haben die Autoren NACHTSHEIM und KLEIN (1947), DAHR und KNÜPPEL (1947), BRUNER, HULL und DOLL (1948), BRION und GORET (1949) beschrieben.

Die Pathogenese der Erythroblastose beruht auf dem diaplacentaren Übertritt von Antikörpern aus dem mütterlichen Blut in den kindlichen Kreislauf. Ausführliche Untersuchungen über die diaplacentare Passage von Antikörpern des ABO-Systems stammen von JUNGWIRTH (1955), ROBINSON und DUNN (1960), ZUELZER und KAPLAN (1954). Voraussetzung für das Entstehen mütterlicher Antikörper ist das Eindringen von Antigenen in den mütterlichen Organismus, die diaplacentar oder auf anderem parenteralem Wege übertreten können. Als Antigene kommen hauptsächlich wasserlösliche Blutgruppensubstanzen und Erythrocyten in Betracht.

Bei der Entstehung der Rh-Erythroblastose dürften in erster Linie fetale Erythrocyten die Sensibilisierung hervorrufen. Für die ABO-Erythroblastose wird auch die diaplacentare Passage wasserlöslicher Blutgruppensubstanzen diskutiert, die FREDA (1958) nachgewiesen hat. Jedoch ist die Bedeutung der Blutgruppensubstanzen nicht ganz geklärt, da sich unter den Kindern mit ABO-Erythroblastose Ausscheider und Nichtausscheider befinden (REEPMAKER und VAN LOGHEM, 1953; ZUELZER und KAPLAN, 1954; LEVINE, 1955).

Weitere Möglichkeiten für eine Sensibilisierung der Mutter bestehen in Bluttransfusionen, Injektionen von Serum und Mischplasma, in der parenteralen Applikation von tierischen Antitoxinen, Impfstoffen und Magenschleimhautextrakten, in denen z. T. A- und B-Substanzen enthalten sind, und anderen Stoffen, die eine Antigenverwandtschaft besitzen. In den letzteren Fällen ist eine derartige Sensibilisierung nur innerhalb des ABO-Systems bekannt.

Als die wirksamste Therapie hat sich bis heute die Austauschtransfusion erwiesen. Sie wurde schon 1925 von J. L. Mc DONALD durchgeführt (zit. nach SCHWENZER, 1953), fand jedoch trotz eines Erfolges zunächst keine Anwendung und Verbreitung. Die Austauschtransfusion wurde 1946 wieder in den USA eingeführt (WALLERSTEIN, 1946). Zur Verbesserung der Technik wurden verschiedene Vorschläge gemacht (DIAMOND, 1948; WIENER und WEXLER, 1946 und 1950). Als weitere therapeutische bzw. prophylaktische Möglichkeiten wurden eine vorzeitige Entbindung durch Sectio caesarea oder eine frühzeitige Einleitung der Geburt durch Medikamente, sowie Hapten- und Corticoidbehandlung, Austauschtransfusion der Mutter und immunbiologische Maßnahmen (Gegenimmunisierung, Desensibilisierung) vorgeschlagen. Jedoch konnte keine dieser Behandlungsmethoden überzeugen.

Über die spätere Entwicklung von Neugeborenen mit Morbus haemolyticus neonatorum wurden kürzlich Untersuchungen veröffentlicht (PREISLER, GRONAU und HORSTMANN, 1963). Dabei erwies sich eine frühzeitige Austauschtransfusion als das beste Mittel zur Verhütung von Spätschäden. Kinder, die nicht mit einer Austauschtransfusion behandelt wurden, waren auch bei leichterem Verlauf des M. h. n. in ihrer Entwicklung benachteiligt und zeigten neben anderen Schäden häufiger ein pathologisches Elektroencephalogramm.

Für eine frühzeitige Erkennung des Morbus haemolyticus neonatorum ist die Kenntnis der Blutgruppen der Eltern und bei entsprechenden Differenzen eine Antikörperbestimmung im Serum der Mutter notwendig. Für die Bundesrepublik werden diese Maßnahmen durch die Schwangerenfürsorge wenigstens für das Rh-System angestrebt. Weiter muß sofort nach der Geburt das Nabelschnurblut serologisch untersucht werden. Der ABO-Typ des Feten kann vor der Geburt an Zellen der Amnionflüssigkeit (FUCHS zit. n. KAYSER, 1955) und aus der Amnionflüssigkeit selbst (HOFBAUER, 1956) bestimmt werden. Der Test nach HOFBAUER ist jedoch nur bei Ausscheidern anwendbar. Eine weitere Möglichkeit bietet der Nachweis von Antikörpern im Fruchtwasser.

Die Aetiologie der Erythroblastose wurde schrittweise geklärt. Zunächst hatte man bei heterospezifischen Schwangerschaften an eine Schädigung der Mutter gedacht und auch Untersuchungen in dieser Richtung durchgeführt. Auf die Möglichkeit einer Schädigung des Kindes durch mütterliche Antikörper wiesen HIRSZFELD und ZBOROWSKI (1925 und 1926) hin. Durch ihre Untersuchungen konnten sie jedoch keine wirklich beweisenden Ergebnisse erbringen. Eine große Wendung brachte die Entdeckung des Rh-Faktors durch LANDSTEINER und WIENER (1940)

und weiterhin die Theorie von LEVINE für das Entstehen einer Rh-Erythroblastose (LEVINE und STETSON, 1939; LEVINE, BURNHAM, KATZIN und VOGEL, 1941). Mit dieser Theorie konnten jedoch nicht alle Fälle von Morbus haemolyticus neonatorum geklärt werden, da die entsprechende Verteilung der Rh-Faktoren bei Mutter und Kind nicht zu finden war. Daher vermutete man einerseits weitere Gruppen des Rh-Systems, andererseits aber auch eine Krankheitsursache in anderen Blutgruppensystemen, darunter auch in den klassischen Blutgruppen. Den ersten Beweis für die Beteiligung des ABO-Systems bei Erythroblastosen erbrachte POLAYES (1945).

Während bei der Rh-Erythroblastose die Diagnose einer Sensibilisierung der kindlichen Erythrocyten mit diaplacentar übergetretenen Rh-Antikörpern durch verschiedene serologische Teste (Zusatz von Conglutinin, Coombstest, Enzymteste) leicht und sicher gelingt, zeigte es sich, daß bei der ABO-Erythroblastose hiermit keine sicheren diagnostischen Möglichkeiten bestehen. Es wurde daher eine Reihe von Testen zum serologischen Nachweis einer ABO-Erythroblastose im mütterlichen und kindlichen Blut angegeben. Zur Erfassung der Antikörper im mütterlichen Blut werden im Wesentlichen benutzt:

1. Agglutinationstiter
2. Konglutinationstiter
3. Partielle Neutralisation des Serums mit AB-Blutgruppensubstanz
4. AB-Gamma-Test
5. Indirekter Coombstest (Indirekter Anti-Human-Globulin-Test = Indirekter AHG-Test)
6. Hämolysintest

Versuchsanordnung, Material

Von den oben genannten Nachweisen der Antikörper an den kindlichen Erythrocyten wurden nicht alle einbezogen, da sie teilweise von vornherein durch Untersuchungen anderer Autoren für die Diagnose der ABO-Erythroblastose nicht geeignet erschienen.

Auf die direkte Konglutinationsreaktion hat man größtenteils verzichtet, da unspezifische Reaktionen nicht ausgeschlossen werden können. Die Optimal-Mediumtechnik von MUNK-ANDERSEN besitzt eine Parallelität zur Sphärocytose und nicht zur ABO-Erythroblastose (HOLLÄNDER, 1958).

Beim ASHBY-Test wird aus der Überlebenszeit transfundierter Erythrocyten auf das Vorhandensein einer hämolytischen Störung geschlossen. Er ist jedoch für die praktische Diagnostik unbrauchbar, da seine Durchführung zu viel Zeit beansprucht (WÖLLNER-PLÜCKTHUN, 1958).

Die untersuchten Personen lassen sich in vier Gruppen gliedern:

I. Schwangere
II. Mütter, bei deren Kindern ein Verdacht auf ABO-Erythroblastose bestand
III. Säuglinge mit Verdacht auf ABO-Erythroblastose
IV. Blutspender der Gruppe 0

I. Schwangere

Es wurde das Blut von 52 Schwangeren untersucht, die zur Schwangerenberatung in die Univ.-Frauenklinik Freiburg (Dir.: Prof. Dr. Wimhöfer) kamen.* Es wurden nur Schwangere der Blutgruppe 0 ausgewählt, da hier die Wahrscheinlichkeit einer Immunisierung im ABO-System am größten ist. Nach sonstigen Gesichtspunkten wurde keine Auswahl getroffen. Die Schwangeren befanden sich im 3. bis 9. Monat der Schwangerschaft, einige standen wenige Tage vor der Geburt.

Bei der Gruppe I wurden folgende Teste durchgeführt:

1. Kontrolle der ABO-Gruppe und Bestimmung des Rh-Faktors
2. Hämolysintest gegen A_1- und B-Erythrocyten
3. Titerbestimmung im Albumin- und Kochsalzmilieu, jeweils gegen A_1- und B-Erythrocyten
4. Der AB-Gamma-Test gegen A_1- und B-Erythrocyten

Nach der Entbindung wurde das klinische Bild der Säuglinge beobachtet um festzustellen, ob eine etwaige Erkrankung des Säuglings mit dem serologischen Befund bei der Mutter während der Schwangerschaft übereinstimmt.

II. Mütter, bei deren Kindern ein Verdacht auf ABO-Erythroblastose bestand

Bei den Müttern der Säuglinge, die auf eine ABO-Erythroblastose verdächtig erschienen, wurden dieselben Teste wie bei Gruppe I angewendet. Da sich unter

---

* Der Universitäts-Frauenklinik sei an dieser Stelle für das Überlassen der Seren und der klinischen Befunde gedankt.

den 16 untersuchten Kindern keines mit der Blutgruppe B oder AB befand, also nur Kinder mit der Blutgruppe A im Untersuchungsgut waren, wurden der Hämolysintest, die Titerbestimmung und der AB-Gamma-Test nur mit A_1-Testerythrocyten ausgeführt. Der Hämolysintest wurde noch zusätzlich mit den Erythrocyten des Kindes angesetzt.

III. Säuglinge mit Verdacht auf ABO-Erythroblastose

Das Blut der Kinder, bei denen ein Verdacht auf ABO-Erythroblastose bestand, wurde mit folgenden Testen untersucht:

1. Direkter Coombstest (Direkter Anti-Human-Globulin-Test = Direkter AHG-Test)
2. Indirekter Coombstest (Indirekter Anti-Human-Globulin-Test = Indirekter AHG-Test)
3. Antikörperabsprengung (AKA)

Bei den 15 Fällen mit Verdacht auf ABO-Erythroblastose konnte bei 11 eine ABO-Erythroblastose klinisch gesichert werden. 6 dieser Kinder wurden mit Austauschtransfusion behandelt. Bei den restlichen 5 war das erythroblastotische Bild nicht so schwer, daß eine Austauschtransfusion angezeigt erschien; sie wurden daher mit kleineren Bluttransfusionen und Tutofusininfusionen behandelt.

Zur Diagnose der Erythroblastose wurden herangezogen: Icterus (frühzeitig, verstärkt, verlängert), Leber- und Milzvergrößerung, Bilirubinwerte, Blutbild (Reticulocyten, Erythroblasten).*

---

* Der Univ.-Kinderklinik (ehem. Dir.: Prof. Keller) sei an dieser Stelle für das Überlassen der Seren und klinischen Befunde gedankt.

9 Mütter dieser 11 Kinder mit klinisch gesicherter Erythroblastose waren rhesuspositiv, so daß eine Rh-Inkompatibilität unwahrscheinlich war und ausgeschlossen werden konnte. Auch bei den beiden rh-negativen Müttern fand sich kein Anhalt für eine Rh-Antikörperbildung.

IV. Blutspender der Gruppe 0

Bei 400 Blutspendern der Blutgruppe 0 wurde das Vorhandensein oder Fehlen der Hämolysine festgestellt. Es wurde dabei keinerlei Auswahl getroffen. Die Spender waren überwiegend männlichen Geschlechts.

Methoden der immunhämatologischen Untersuchungen

1. Bestimmung der ABO- und Rh-Faktoren

Zu je einem Tropfen der Testseren auf der Tüpfelplatte in der Reihenfolge Anti-A, Anti-B, Anti-A + B wurde ein Tropfen des zu untersuchenden Vollblutes gegeben und gut vermischt. Es wurde nach 1 — 2 Minuten abgelesen und nach 5 Minuten kontrolliert. Verwendet wurden industriell hergestellte Immuntestseren.

Daneben wurden je ein Tropfen Testerythrocytensuspension, etwa 5 %ig, in der Reihenfolge A_1, A_2, B aufgebracht und mit einem Tropfen des zu untersuchenden Serums vermischt und nach 10 Minuten abgelesen.

Als Testerythrocyten wurden dreimal in physiologischer Kochsalzlösung gewaschene Erythrocyten verwendet, die aus jeweils drei Blutproben von A_1-, A_2-, bzw. B-Blutspendern gemischt wurden.

Gleichzeitig wurden die ABO-Faktoren auch auf Eldonkarten für Blutgruppenbestimmung ABO und Rhesusfaktor (Nordisk Insulinlaboratorium, Gentofte, Dänemark) bestimmt. Bei diesem Verfahren sind die Testseren auf einer Karte in kleinen Feldern eingetrocknet und mit einem Zellulose-Film überzogen. Die Karten können auf 2 Arten benutzt werden:

I. Die Testseren werden auf der Karte in reinem Wasser gelöst und dann mit einer bestimmten Menge kapillaren Blutes der zu untersuchenden Person gemischt.

II. Die Testseren werden auf der Karte in einer Aufschwemmung der zu prüfenden Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung gelöst.

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde Technik II angewendet. Für die genauen Vorschriften sei auf die Angaben des Herstellers verwiesen.

Die Bestimmung des Rh-Faktors wurde vorgenommen, indem auf einem Objektträger 1 Tropfen Testserum und 2 Tropfen Vollblut vermischt wurden. Abgelesen wurde auf der Rhesusschaukel nach 1 — 2 Minuten. Zusätzlich erfolgte noch eine Bestimmung des Rh-Faktors auf der Eldonkarte (siehe oben).

Daneben wurden noch folgende Faktoren bestimmt: C, c, C^w, E, bei positivem Ausfall auch e, sowie bei negativem D noch eine Kontrolle auf D^u im indirekten AHG-Test.

2. Hämolysintest

0,2 ml des zu untersuchenden Serums und 0,2 ml einer ca. 5 %igen Testerythrocytenaufschwemmung wurden in einem kleinen Röhrchen zusammengebracht. Abgelesen wurde 30 Minuten nach Inkubation bei 37° C im Brutschrank. Die Bewertung der Hämolyse erfolgte nach den Graden:

komplett
fast komplett
stark
mäßig
wenig
Spur
ohne

Das Serum wurde meistens vor Ablauf von 24 Stunden verwendet. War das Serum älter als 24 Stunden, wurde Komplement zugesetzt.

Bei Verdacht auf Erythroblastose wurden auch Erythrocyten des Kindes mit dem Serum der Mutter angesetzt.

3. Bestimmung der Agglutinations- und Konglutinationstiter

a) Agglutinationstiter

In kleinen Zentrifugenröhrchen wurde eine Verdünnungsreihe des zu testenden Serums in isotonischer Kochsalzlösung hergestellt. Im ersten Röhrchen befand sich unverdünntes Serum. Es folgten die Verdünnungen 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 usw. In jedes Röhrchen wurde ein Tropfen einer 5 %igen Testerythrocytenaufschwemmung in isotonischer Kochsalzlösung gegeben. Den Abschluß der Reihe bildete ein Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung und Testerythrocytensuspension, das zur Kontrolle diente. Nach einer Inkubationszeit von 60 Minuten im Brutschrank (37° C) wurden die Ergebnisse in den Verdünnungsreihen abgelesen. Als Titerendpunkt wurde diejenige Verdünnungsstufe bezeichnet, bei der noch eine mit dem bloßen Auge erkennbare Agglutination vorhanden war.

b) Konglutinationstiter

Das Vorgehen glich dem bei der Agglutination. Jedoch erfolgte die Verdünnung des Serums und die Aufschwemmung der Testerythrocyten in 20 %igem Rinderalbumin.

4. AB-Gammaglobulin-Neutralisations-Test

Der AB-Gamma-Test beruht auf folgendem Prinzip: Einem Serum bzw. einer Serumverdünnung wird AB-Blutgruppensubstanz in bestimmter Menge zugegeben, um die kompletten Antikörper abzubinden. Danach weist man mit Hilfe des indirekten Coombstestes eventuell vorhandene inkomplette Antikörper nach. Dabei wird durch Parallelbestimmung mit einem Coombsserum, in dem die Anti-Gammaglobulin-Fraktion durch Zugabe von Gammaglobulin neutralisiert wurde, ermittelt, ob es sich bei dem nachgewiesenen Antikörper um einen Gammaglobulinantikörper („immun“) oder um einen Nichtgammaglobulinantikörper („natürlich“) handelt.

Technik des AB-Gamma-Testes:

a) Das erste von 4 Zentrifugenröhrchen wurde mit 5, das zweite mit 1 Tropfen des zu untersuchenden nicht inaktivierten Serums beschickt.

b) In das zweite Röhrchen wurden 9, in das dritte und vierte Röhrchen je 5 Tropfen NaCl-Lösung gegeben. Durch Titration mit 5 Tropfen — aus Röhrchen 2 beginnend — und Verwerfen der letzten 5 Tropfen wurden die Serumverdünnungen 1:10, 1:20 und 1:40 hergestellt, so daß sich schließlich in den 4 Röhrchen folgende Serumkonzentrationen befanden:

   1. Röhrchen unverdünnt
   2. Röhrchen 1 : 10
   3. Röhrchen 1 : 20
   4. Röhrchen 1 : 40

c) Zu jedem Röhrchen wurde jeweils ein Tropfen AB-Blutgruppensubstanz (WITEBSKY, 1948) gegeben. Diese Menge führt nach FISCHER zu einer Reduktion der kompletten Antikörper von etwa 6 (Anti-A) bzw. 5 (Anti-B) Stufen, wobei der Ausgangstiter nicht erwähnt ist. Es wurde die AB-Blutgruppensubstanz von Merck, Sharp und Dohm benutzt.

d) Nach 10 Minuten wurden jeweils 6 Tropfen einer 5%igen Aufschwemmung von A_1- bzw. B-Blut hinzugefügt. Nach der Originalmethode werden durch Austitrieren mit einem Anti-A_1-Serum rezeptorenstarke A_1-Blutkörperchen ausgesucht. Die Originalmethode wurde hier dahingehend modifiziert, daß Testerythrocyten zur Verwendung kamen, die aus einer Mischung von 3 verschiedenen A_1-Erythrocyten bestanden.

e) Das Reaktionsgemisch wurde 30 Minuten lang in einen Brutschrank bei 37° C gestellt. Danach wurden die Blutkörperchen dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und so in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, daß sich in jedem Röhrchen ein Gesamtvolumen von 6 Tropfen befand.

f) Auf eine Tüpfelplatte wurden 2 waagrechte Reihen (jeweils 4 mal 1 Tropfen) Coombsserum in Gebrauchsverdünnung getropft. Zu der ersten Reihe wurden 4 x 1 Tropfen physiologische Kochsalzlösung, zu der zweiten Reihe 4 x 1 Tropfen einer Gammaglobulinlösung gegeben. Verwendet wurde eine 0,16%ige Gammaglobulinlösung, die aus einer 16%igen Gammaglobulinlösung (Behringwerke, Marburg) durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt wurde. Zu diesen beiden Reihen kam eine 3. Reihe mit 4 x 2 Tropfen physiologischer Kochsalzlösung hinzu.

Nach der Reaktion des Coombsserums mit dem Gammaglobulin (5 Minuten) wurde aus jedem Röhrchen je 1 Tropfen der vorbehandelten Blutkörperchen auf die senkrechte Reihe gebracht, mit einem Glasstab gut gemischt und nach 5 und 10 Minuten bei Zimmertemperatur abgelesen.

Die Anordnung zeigt folgendes Bild:

Bild 1:

Senkrechte Reihen	Waagrechte Reihen			
	Serumverdünnung			
	unverdünnt	1 : 10	1 : 20	1 : 40
1. Coombsserum + NaCl-Lösung	o	o	o	o
2. Coombsserum + Globulin	o	o	o	o
3. NaCl-Lösung	o	o	o	o

Die senkrechten Reihen können folgende Reaktionsbilder zeigen:

1. Agglutination in allen drei Reaktionsgemischen: komplette Antikörper bzw. Agglutination aus anderer Ursache.
2. Agglutination in den ersten beiden Reaktionsgemischen: natürliche inkomplette Antikörper.
3. Agglutination nur im ersten Reaktionsgemisch: positiver AB-Gamma-Test: inkomplette Immunantikörper (Gammaglobulinantikörper).

Von FISCHER werden Coombsseren bevorzugt, die nach Angaben von BLUMENTHAL und BICKERICH (1955) hergestellt wurden. Es handelt sich um eine kombinierte Speichel-Serum-Immunisierung. Bei den hier durchgeführten Versuchen wurden hochwertige AHG-Seren der Behringwerke verwendet, die in ihren Titern denen von BLUMENTHAL-BICKERICH entsprachen.

5. Direkter Coombstest (Direkter Anti-Human-Globulin-Test)

a) Dreimal in physiologischer Kochsalzlösung gewaschenen Erythrocyten des Kindes wurden handelsübliche Anti-Human-Globulinseren auf Tüpfelplatten zugesetzt und nach 10 Minuten abgelesen.

b) Der Coombstest auf Eldonkarten wurde entsprechend den Originalanweisungen durchgeführt (Eldonkarten für Verträglichkeitsproben, Nordisk Insulinlaboratorium, Gentofte, Dänemark. Das Prinzip der Eldonkarten wurde oben beschrieben.).

6. Indirekter Coombstest (Indirekter Anti-Human-Globulin-Test)

Zu gleichen Teilen mütterlichen Serums wurde eine 5%ige Aufschwemmung von entsprechenden Testblutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt, gemischt und 60 Minuten bei 37° C inkubiert. Danach verfuhr man wie beim direkten Coombstest (siehe oben, unter 5 a).

Außerdem wurde der indirekte Coombstest auch mit den Blutkörperchen des Kindes angesetzt, wobei störende komplette Antikörper Anti-A und Anti-B mit AB-Blutgruppensubstanz absorbiert wurden.

7. Antikörperabsprengung (AKA)

Gewaschene Erythrocyten des Kindes wurden zu gleichen Teilen zu physiologischer Kochsalzlösung gegeben. Durch 5 Minuten lange Inkubation im Wasserbad bei 56° C wurde versucht, die Antikörper abzusprengen. Hierauf wurde zentrifugiert und 4 Teile vom Überstand mit 1 Teil Testerythrocyten der entsprechenden Blutgruppe zusammengebracht und 60 Minuten bei 37° C im Brutschrank inkubiert. Danach wurden die Erythrocyten dreimal gewaschen; je 1 Tropfen Erythrocyten und 1 Tropfen Coombsserum wurden 2 Minuten bei 1000 U/min. bei einem Radius der Zentrifuge von 17 cm zentrifugiert und eine makroskopisch sichtbare Agglutination als positiv bewertet. Die Reaktionen wurden in 4 Stufen bewertet: negativ, schwach = +, stark = ++, sehr stark = +++. Zur Absicherung negativer Befunde erfolgte zusätzlich eine Ablesung mit 2½facher Lupenvergrößerung.

Ergebnisse

I. Hämolysintest

1. Hämolysintest bei Schwangeren (Gruppe I)

Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Prozentzahlen wurden wegen der kleinen Anzahl nur ungefähr angegeben. Sie sollen nur die Übersichtlichkeit beim Vergleich der Tabellen erhöhen. Dasselbe gilt auch für die folgenden Tabellen.

Tabelle 1: Hämolysintest bei Schwangeren

Stärke der Reaktion	Hämolysine gegen A_1	Hämolysine gegen B
komplett	3 (6 %)	1 (2 %)
fast komplett	2 (4 %)	0
stark	4 (8 %)	0
Spur	7 (13 %)	6 (11 %)
Summe	16 (31 %)	7 (13 %)
ohne Hämolysine	36 (69 %)	45 (87 %)
Gesamtzahl	52 (100 %)	52 (100 %)

Bei den 16 Kindern der Mütter, bei denen während der Schwangerschaft Hämolysine nachgewiesen wurden, trat in 2 Fällen ein verstärkter Icterus auf; bei den Kindern der Mütter ohne Hämolysine entwickelte sich in einem Fall

ein verstärkter Icterus. Eine ABO-Erythroblastose konnte bei keinem der 52 Kinder klinisch gesichert werden.

2. Hämolysintest bei Müttern mit an ABO-Erythroblastose erkrankten Kindern (Gruppe II)

Die Ergebnisse zeigt die Tabelle 2. Der Hämolysintest wurde nur mit A_1-Erythrocyten angesetzt, da alle Kinder der Blutgruppe A angehörten. Andere Stärkegrade der Hämolyse als die angegebenen wurden nicht beobachtet.

Tabelle 2: Hämolysintest bei Müttern mit erythroblastotischen Kindern: Mütterliches Serum gegen A_1-Erythrocyten und mütterliches Serum gegen kindliche Erythrocyten.

Reaktionsausfall	Hämolysine gegen A_1		Hämolysine gegen kindl. Erythrocyten	
komplett	5	(46 %)	2	(18 %)
stark	3	(27 %)	4	(36 %)
Spur	1	(9 %)	2	(18 %)
Summe	9	(82 %)	8	(72 %)
ohne Hämolysine	2	(18 %)	3	(28 %)
Gesamtzahl	11	(100 %)	11	(100 %)

In Tabelle 3 sind die Ergebnisse des Hämolysintestes bei Müttern mit erythroblastotischen Kindern einmal mit Testerythrocyten und einmal mit kindlichen Erythrocyten einander im einzelnen gegenübergestellt.

Tabelle 3: Vergleich der Hämolysinteste mit Testerythrocyten und kindlichen Erythrocyten.

Nr. des Falles	Hämolysintest mütterl. Serum gegen Testerythrocyten	Hämolysintest mütterl. Serum gegen kindl. Erythrocyten
1	stark	stark
2	komplett	stark
3	komplett	komplett
4	komplett	komplett
5	keine	keine
6	Spur	Spur
7	stark	stark
8	keine	keine
9	stark	Spur
10	komplett	stark
11	komplett	keine

Tabelle 4: Hämolysintest bei Blutspendern der Gruppe 0

Stärke der Reaktion	Hämolysine gegen A_1		Hämolysine gegen B	
komplett	22	(5,50 %)	3	(0,75 %)
fast komplett	42	(10,50 %)	17	(4,25 %)
Spur	81	(20,25 %)	51	(12,75 %)
Summe	145	(36,25 %)	71	(17,75 %)
ohne Hämolysine	255	(63,75 %)	329	(82,25 %)
Gesamtzahl	400	(100,00 %	400	(100,00 %)

II. Bestimmung der Titer im Albumin- und Kochsalzmilieu

Die Titer wurden zur besseren Übersicht in Stufen eingeteilt. Dabei entspricht die Stufe 1 der Serumverdünnung 1 : 1, die Stufe 2 der Verdünnung 1 : 2, die Stufe 3 der Verdünnung 1 : 4, die Stufe 4 der Verdünnung 1 : 8 usw.

1 a) Die Titer bei Schwangeren

Das Ergebnis der Titerbestimmung bei Schwangeren zeigen Tabelle 5 und Tabelle 6. Die Gesamtzahl der Fälle beträgt jeweils 52.

Tabelle 5: Endtiter im Albumin- und Kochsalzmilieu bei Schwangeren gegen A_1-Erythrocyten.

Stufen		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Agglutination	Anzahl	–	–	1	1	9	17	11	7	1	3	1	1	–
	%	–	–	2	2	17	33	21	13	2	6	2	2	–
Konglutination	Anzahl	–	–	–	–	–	6	20	10	9	4	1	1	1
	%	–	–	–	–	–	11	38	19	17	8	2	2	2

Tabelle 6: Endtiter gegen B-Erythrocyten im Albumin- und Kochsalzmilieu bei Schwangeren

Stufen		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Agglutination	Anzahl	–	1	1	8	10	13	11	2	4	2	–	–	–
	%	–	2	2	15	19	25	21	4	8	4	–	–	–
Konglutination	Anzahl	–	1	–	1	3	11	12	6	8	1	1	–	–
	%	–	2	–	2	6	21	23	11	15	2	2	–	–

1 b) Titerdifferenzen bei Schwangeren

Die Differenzen zwischen Konglutinations- und Agglutinationstitern bei Schwangeren zeigen Tabelle 7 und Tabelle 8.

Tabelle 7: Titerdifferenz bei Schwangeren bei Titerbestimmung mit A_1-Erythrocyten.

Stufenunterschied	0	1	2	3	4
Anzahl	15	18	12	7	–
in %	29	35	23	13	–

Tabelle 8: Titerdifferenz bei Schwangeren bei Titerbestimmung mit B-Erythrocyten

Stufenunterschied	0	1	2	3	4
Anzahl	18	19	11	4	–
in %	35	37	21	8	–

2 a) Agglutinations- und Konglutinationstiter bei Müttern mit an ABO-Erythroblastose erkrankten Kindern

Die Ergebnisse der Titerbestimmung der Mütter mit erythroblastotischen Kindern zeigt Tabelle 9. Da alle Kinder der Blutgruppe A angehörten, wurden die Titer nur mit A_1-Erythrocyten bestimmt.

Tabelle 9: Agglutinations- und Konglutinationstiter der Mütter mit an ABO-Erythroblastose erkrankten Kindern gegen A_1-Erythrocyten

Stufen		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Agglutination	Anzahl	—	—	—	1	1	1	4	1	2	1	—	—
	%	—	—	—	9	9	9	36	9	18	9	—	—
Konglutination	Anzahl	—	—	—	—	—	—	5	3	1	1	1	—
	%	—	—	—	—	—	—	45	27	9	9	9	—

2 b) Titerdifferenzen der Mütter, deren Kinder an ABO-Erythroblastose erkrankten

Die Titerdifferenzen bei Müttern mit erythroblastotischen Kindern zeigt Tabelle 10.

Tabelle 10: Titerdifferenzen der Mütter mit erkrankten Kindern bei Titerbestimmungen gegen A_1-Erythrocyten

Stufendifferenz	0	1	2	3	4
Anzahl	5	2	2	2	—
in %	45	18	18	18	—

3. Vergleichende Darstellungen der Titer von Schwangeren und Müttern mit erythroblastotischen Kindern

Die Agglutinationstiter von Schwangeren und von Müttern mit an Erythroblastose erkrankten Kindern zeigt Tabelle 11.

Tabelle 11: Agglutinationstiter von Schwangeren und Müttern mit an Erythroblastose erkrankten Kindern gegen A_1-Erythrocyten

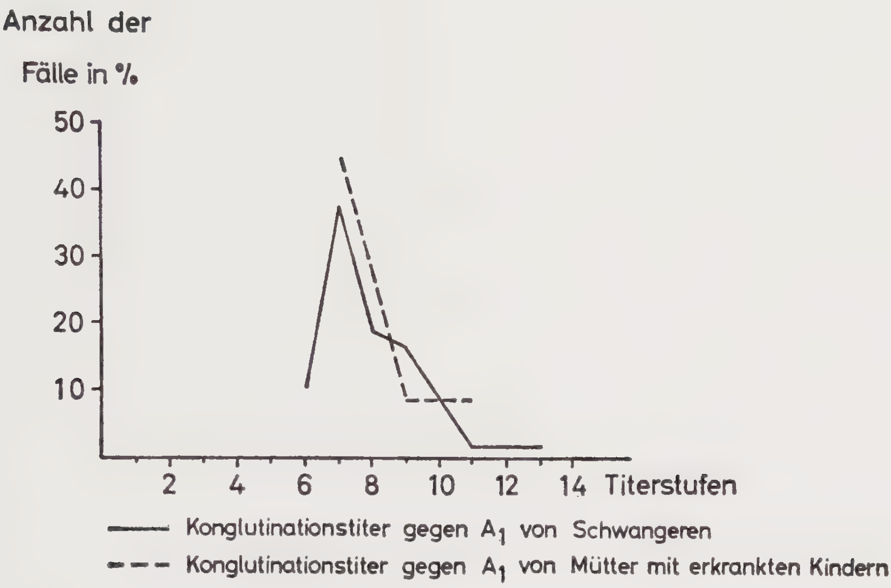
Stufen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Schwangere, in %	—	—	2	2	17	33	21	13	2	6	2	2	—
Mütter mit erkrankten Kindern, in %	—	—	—	9	9	9	36	9	18	9	—	—	—

Einen Vergleich der Konglutinationstiter der Antikörper gegen A_1 bei Schwangeren und Müttern mit erkrankten Kindern zeigen Tabelle 12 und Bild 2.

Tabelle 12: Konglutinationstiter gegen A_1-Erythrocyten bei Schwangeren und Müttern mit erkrankten Kindern

Stufen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Schwangere, in %	—	—	—	—	—	11	38	19	17	8	2	2	2
Mütter mit erkrankten Kindern, in %	—	—	—	—	—	—	45	27	9	9	9	—	—

Bild 2: Graphische Darstellung von Tabelle 12

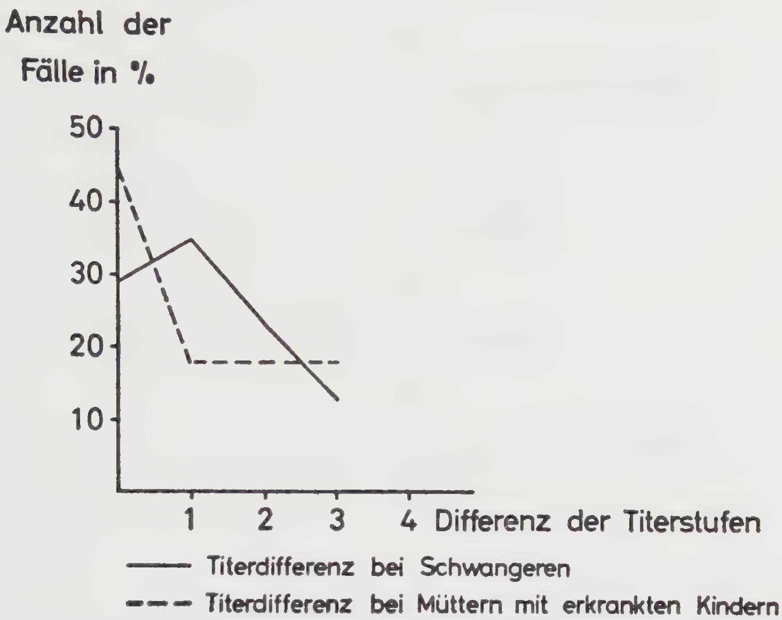


Die Titerdifferenzen bei Schwangeren und Müttern mit erkrankten Kindern sind in Tabelle 13 zusammengestellt und in Bild 3 graphisch dargestellt.

Tabelle 13: Titerdifferenz bei Schwangeren und bei Müttern mit erkrankten Kindern ebenfalls bei Titerbestimmung mit A_1-Erythrocyten

Stufendifferenz	0	1	2	3	4
Schwangere, in %	29	35	23	13	–
Mütter mit erkrankten Kindern, in %	45	18	18	18	–

B i l d 3 : Graphische Darstellung der Tabelle 13



III. A B - G a m m a - T e s t

1. A B - G a m m a - T e s t b e i S c h w a n g e r e n

Die Zahl der Schwangeren, bei denen der AB-Gamma-Test durchgeführt wurde, beträgt 52. Eine positive Reaktion trat 6 mal auf, und zwar mit A_1-Erythrocyten. Diese positiven Ergebnisse waren jedoch nur im unverdünnten Serum zu erzielen, während der Test in den weiteren Verdünnungsreihen bis 1 : 40 negativ war. Mit B-Erythrocyten war kein positiver Ausfall des AB-Gamma-Testes festzustellen.

Die Kinder der Mütter, die während der Schwangerschaft im AB-Gamma-Test positiv reagierten, zeigten keine Krankheitssymptome.

2. Der AB-Gamma-Test bei Müttern von Kindern, die an klinisch gesicherter ABO-Erythroblastose erkrankt waren

Bei den 11 Müttern, deren Kinder an Erythroblastose erkrankten, war der AB-Gamma-Test 3 mal positiv. Jedoch war die positive Reaktion ebenfalls nur im unverdünnten Serum festzustellen. Alle 11 Teste wurden mit A_1-Erythrocyten angesetzt, da alle Kinder der Blutgruppe A angehörten.

IV. Direkter und indirekter Coombstest bei den erythroblastotischen Kindern und deren Mütter

In allen 11 Fällen fiel der direkte Coombstest negativ aus. Dasselbe war beim indirekten Coombstest festzustellen.

V. Antikörperabsprengung (AKA)

Von den 11 Fällen mit ABO-Erythroblastose konnte nur bei 8 eine AKA durchgeführt werden, da bei den restlichen 3 Fällen nicht ausreichend Nabelschnurblut zur Verfügung stand. Die Reaktionsausfälle zeigt Tab. 14.

Tabelle 14: Ergebnisse der Antikörperabsprengung vom Nabelschnurblut erythroblastotischer Kinder

Reaktionsausfall	negativ	+	++	+++
Anzahl	3	1	3	1

VI. Vergleichende Darstellung von Hämolysintest, AB-Gamma-Test und AKA

Tabelle 15: Vergleich von Hämolysintest, AB-Gamma-Test und Antikörperabsprengung bei Kindern mit ABO-Erythroblastose

	Hämolysintest	AB-Gamma-Test	AKA
1.	stark	ϕ	ϕ
2.	komplett	ϕ	++
3.	komplett	ϕ	+
4.	komplett	ϕ	ϕ
5.	negativ	+	fehlt *
6.	Spur	ϕ	fehlt *
7.	stark	ϕ	fehlt *
8.	negativ	ϕ	++
9.	stark	ϕ	+++
10.	komplett	+	ϕ
11.	komplett	+	++

* wurde wegen zu geringer Blutmenge, die zur Verfügung stand, nicht durchgeführt.

Tabelle 16: Vergleich von Hämolysintest und AB-Gamma-Test bei Schwangeren mit positivem AB-Gamma-Test und gesunden Kindern.

	Hämolysintest	AB-Gamma-Test
1.	keine	+
2.	Spur	+
3.	keine	+
4.	Spur	+
5.	keine	+
6.	mäßig	+

Besprechung der Ergebnisse

Von den Schwangeren zeigten etwa 1/3 Hämolysine (ca 31 %) gegen A_1-Erythrocyten. Hämolysine gegen B wurden hier nicht berücksichtigt, da die durch Hämolysine Anti-B hervorgerufene Erythroblastose sehr selten und in diesem Untersuchungsgut nicht enthalten ist. Von den Kindern, bei deren Müttern Hämolysine nachgewiesen wurden, zeigten zwei einen verstärkten Icterus, von denen ohne Hämolysine nur eines einen verstärkten Icterus. Dieser Unterschied im Auftreten eines verstärkten Icterus des Kindes beim Vorhandensein oder Fehlen von Hämolysinen bei der Mutter ist bei der hier vorliegenden kleinen Anzahl ohne Aussagewert.

Vergleicht man jedoch das Vorkommen von Hämolysinen bei Schwangeren und bei Müttern mit erythroblastotischen Kindern, so ergeben sich deutliche Unterschiede. Bei den Schwangeren fanden sich bei ca 31 % Hämolysine, von den Müttern der Kinder mit Erythroblastose hatten dagegen ca 82 % Hämolysine. Noch deutlicher wird der Unterschied, wenn man die Fälle mit kompletter Hämolyse vergleicht: das sind bei den Schwangeren etwa 6 %, bei der anderen Gruppe dagegen 45 %. Ähnlich ist es beim Auftreten einer starken Hämolyse. Schwangere zeigten zu etwa 8 % eine starke Hämolyse, Mütter mit an Erythroblastose erkrankten Kindern eine starke Hämolyse zu 27 %. Am geringsten ist der Unterschied bei in Spur auftretenden Hämolysinen, bei Schwangeren 13 %, bei der Gruppe mit erkrankten Kindern 9 %. Es sind also fast in allen Fällen einer Erythroblastose im Blut der Mutter Hämolysine nachzuweisen, während bei Schwangerschaften, die ohne Morbus haemolyticus neonatorum verlaufen, ein wesentlich geringerer Teil der Mütter Hämolysine aufweist.

Wie aus Tabelle 2 und vor allem aus Tabelle 3 ersichtlich ist, zeigen Hämolysinteste, die mit kindlichen Erythrocyten angesetzt wurden, eine geringere Hämolyse als mit A_1-Testerythrocyten. Diese Tatsache wird häufig beobachtet (MATTHES, persönliche Mitteilung). Die Gründe hierfür sind noch nicht sicher abgeklärt. Am wahrscheinlichsten dürfte die Annahme sein, daß im kindlichen Kreislauf die besonders hämolyseanfälligen Erythrocytenpopulationen bereits in vivo hämolysiert sind und daher die im In-vitro-Versuch benutzten kindlichen Erythrocyten eine höhere Resistenz haben. Auch von der osmotischen Resistenz ist bekannt, daß die Erythrocyten jüngerer Population resistenter sind als ältere Erythrocyten. Andererseits wird auch diskutiert, daß die A-Rezeptoren der Neugeborenen-Erythrocyten verschieden stark ausgebildet sind und rezeptorenstarke und rezeptorenschwache Erythrocyten nebeneinander bestehen. Es werden die Antikörper vornehmlich an die rezeptorenstarken Erythrocyten gebunden und führen zu einem schnellen Untergang dieser Zellen, während die rezeptorenschwachen Erythrocyten länger überleben und unter Umständen auch im Verhältnis zur Gesamtzahl der Erythrocyten zunehmen.

Bei sensibilisierten Müttern lassen sich fast regelmäßig neben Agglutininen auch Hämolysine nachweisen. Jedoch erfährt die Aussagekraft des Hämolysintestes dadurch eine Einschränkung, daß auch bei Müttern mit gesunden Kindern, Frauen ohne Gravidität und bei Männern Hämolysine nachgewiesen werden können. Hierbei werden bis zu 88 % Anti-A und bis zu 63 % Anti-B angegeben (TOVEY, 1958; WÖLLNER und PLÜCKTHUN, 1958; WALKER und DENNIS, 1959). Um eigene Zah-

len zu gewinnen, wurde bei 400 Blutspendern der Blutgruppe 0, überwiegend Männern, der Hämolysintest durchgeführt. Dabei konnten bei 36 % Anti-A-Hämolysine und bei ca 18 % Anti-B-Hämolysine nachgewiesen werden (siehe Tabelle 4). Diese Werte entsprechen auch in etwa denen, die bei den Schwangeren dieses Untersuchungsgutes festgestellt wurden (31 % Anti-A-Hämolysine, 13 % Anti-B-Hämolysine).

Im Gegensatz zu anderen Autoren (SPIELMANN, 1951; CRAWFORD, CUTBUSH und MOLLISON, 1953; HOPPE und WIENKE, 1956) gelang der Nachweis von Hämolysinen nicht in allen Fällen von Erythroblastose, für die nach der Blutgruppenkonstellation eine Sensibilisierung im ABO-System als Ursache angenommen werden konnte. Es ist deshalb durch einen negativen Hämolysintest eine parenterale Sensibilisierung nicht unbedingt auszuschließen.

Nach oben Gesagtem läßt ein Nachweis von Hämolysinen bei Schwangeren keinen sicheren Schluß auf eine spätere Erkrankung des Kindes zu. Die hier an Schwangeren vorgenommenen Hämolysinteste wurden nur einmal während der Schwangerschaft durchgeführt. Auf eine fortlaufende Untersuchung während der Schwangerschaft mußte verzichtet werden, da eine mehrfache Untersuchung während der Schwangerschaft nicht zu erreichen war. Der Wert des Hämolysintestes würde sehr steigen, wenn man im Verlauf einer Schwangerschaft mehrfache Untersuchungen durchführen könnte, besonders, wenn ein ursprünglich negativer Hämolysintest während der Schwangerschaft positiv würde oder bei mehrfachen Untersuchungen ein deutlicher Titeranstieg nachweisbar wäre.

Wie aus den Tabellen 5, 9 und 11 ersichtlich, sind im Auftreten der Agglutinationstiter keine Unterschiede zwischen Schwangeren und Müttern mit erkrankten Kindern festzustellen. Auch bei den Konglutinationstitern sind keine wesentlichen Abweichungen nachzuweisen, wie Tabelle 12 und Bild 2 zeigen. Als Zeichen für eine Erythroblastose sind sehr hohe Konglutinationstiter zu werten, die jedoch nur bei einem Teil der Mütter mit erkrankten Kindern auftreten (FISCHER, 1961). In diesem Untersuchungsgut sind keine auffallend hohen Konglutinationstiter festgestellt worden. Es können sich trotz niederer Titerwerte erythroblastotische Fruchtschäden herausbilden (SCHAUMKELL, 1958). Auch ist bekannt, daß bei der ABO-Erythroblastose der Schaden des Kindes den Titerwerten im Serum der Mutter nicht parallel geht. Außerdem führt die Darstellung inkompletter Antikörper mit verschiedenen Techniken zu unterschiedlichen Resultaten (SCHAUMKELL, 1958). Alle diese Tatsachen lassen die Titerbestimmung im Kochsalz- und auch im Albuminmilieu nicht brauchbar erscheinen.

Die Titerdifferenzen bei Schwangeren und Müttern mit erkrankten Kindern sind in Tabelle 13 und Bild 3 dargestellt. Dabei ist eine Stufendifferenz von mehr als 2 bei den Müttern mit erythroblastotischen Kindern geringfügig häufiger anzutreffen. Über die Bewertung der Stufendifferenz bestehen unterschiedliche Auffassungen. Nach SCHWENZER (1958) spricht eine Stufendifferenz von mehr als 2 Stufen für das Vorhandensein von Immunantikörpern, während FISCHER (1960) eine Differenz von mehr als 5 Stufen fordert. Die Mehrzahl der Autoren betrachtet eine Differenz von mehr als 3 Stufen als Hinweis auf eine Sensibilisierung. WIENER, WEXLER und HURST (1949) sowie JUNGWIRTH (1955) weisen darauf hin, daß inkomplette Antikörper auch ohne nachweisbare Sensibilisierung häufig

gefunden werden. Deshalb kann auch das Heranziehen der Stufendifferenzen keinen Beweis für das Vorliegen einer ABO-Erythroblastose darstellen.

Der AB-Gamma-Test wurde bei 52 Schwangeren durchgeführt, und zwar mit A_1- und B-Testerythrocyten. Mit A_1-Erythrocyten konnte in 6 Fällen eine positive Reaktion erzielt werden; bei Verwendung von B-Erythrocyten war kein positiver Ausfall festzustellen. Die positiven Reaktionen traten nur im unverdünnten Serum auf. Nach FISCHER (1961) ist eine Agglutination in jeder Serumverdünnung als positive Reaktion zu bewerten (siehe auch Ausführung des AB-Gamma-Testes). SCHELLONG (1962) glaubt dagegen, daß eine Reaktion, die nur im unverdünnten Serum auftritt, nicht beweisend ist. In Übereinstimmung mit SCHELLONG zeigten auch die Kinder der Schwangeren mit positivem AB-Gamma-Test im unverdünnten Serum keine Erkrankungen.

Bei den 11 Müttern der an ABO-Erythroblastose erkrankten Kinder war der AB-Gamma-Test 3mal positiv und 8mal negativ. Da die Kinder alle der Blutgruppe A angehörten, wurde der AB-Gamma-Test nur mit A_1-Testerythrocyten durchgeführt. Die 3 positiven Reaktionen waren auch hier nur im unverdünnten Serum zu erzielen. Der AB-Gamma-Test hat also bei $^1/_3$ der Fälle eine ABO-Erythroblastose angezeigt; in mehr als $^2/_3$ der Fälle wäre kein Hinweis auf eine Erkrankung des Kindes erfolgt. Bei ca $^1/_{10}$ der Schwangeren aber würde er eine Sensibilisierung annehmen lassen, obwohl später keine Erkrankung des Kindes auftrat.

Nach diesen Ergebnissen hat der AB-Gamma-Test keine besonderen Vorteile und zeigt keine besseren Resultate gegenüber anderen Methoden. FISCHER selbst hat

darauf hingewiesen, daß der AB-Gamma-Test zur Zeit der Geburt negativ ausfallen und bei bestehender Erkrankung des Kindes einige Tage später positiv werden kann. Es ist jedoch kaum anzunehmen, daß diese Erklärung für alle 8 Fälle dieser Untersuchung zutrifft. Außerdem würde ein AB-Gamma-Test, der erst einige Tage nach der Geburt positiv wird, für die Therapie des Kindes keinen ausreichenden Nutzen mehr bringen, da er für die Indikationsstellung der Austauschtransfusion zu spät kommen würde. Der Erfolg der Austauschtransfusion hängt entscheidend davon ab, daß sie durchgeführt wird, bevor schwere, irreparable Schädigungen eintreten (HOPPE, WIENKE, 1956). Eine Erklärung für das Auftreten nur weniger positiver AB-Gamma-Teste könnte die Art des verwendeten Coombsserums geben. FISCHER verwendet Coombsserum, das nach der Methode von BLUMENTHAL-BICKERICH (1955) gewonnen wird, während bei den hier vorliegenden Untersuchungen Coombsserum der Behringwerke verwendet wurde. Diese hochtitrigen Gamma- und Non-Gamma-Seren wurden auf Wunsch des Freiburger Blutspendedienstes von den Behringwerken hergestellt. Nach theoretischen Erwägungen müßte jedes Coombsserum für den AB-Gamma-Test brauchbar sein, das eine entsprechend hohe Anti-Gamma-Globulin-Komponente enthält. Lediglich wären Coombsseren ungeeignet, die speziell für Non-Gamma-Globulin-Antikörper bestimmt sind.

Der direkte und indirekte AHG-Test war in allen 11 Fällen negativ. Dieser Test erwies sich auch in den hier durchgeführten Untersuchungen für die Diagnose der ABO-Erythroblastose als ungeeignet, wie es auch schon früher von CRAWFORD, HAL, CUTBUSH, MARIE and Mollison (1953), REEPMAKER, LOGHEM (1953), HSIA and GALLIS (1954), ZUELZER, KAPLAN (1954), ROSENFIELD (1955), SABIN and

LOWENSTEIN (1957), HUBINONT, BRICOULT and GHYSDAEL (1960), HABERMANN, KRAFFT, LUECKE, PEACH (1960) festgestellt worden war. Sofern eine Erythroblastose durch Hämolysine ausgelöst ist, ist auch theoretisch kein positives Ergebnis durch den AHG-Test zu erwarten. Nur wenn inkomplette Antikörper bei der ABO-Erythroblastose ebenfalls eine entscheidende Bedeutung hätten, könnte durch einen AHG-Test der Nachweis erfolgen. In jüngster Zeit hat COHEN (1964) einen modifizierten AHG-Test angegeben, der ähnlich wie die Anti-Human-Globulin-Kettenreaktion von Coombs durchgeführt wird. COHEN wäscht bei negativem Ausfall des AHG-Testes erneut dreimal und fügt ein für die entsprechende Spezies des AHG-Serums spezifisches Antiserum hinzu. Nach seinen Untersuchungen ist dieser Test geeignet, an den kindlichen Erythrocyten eine Antikörperbeladung nachzuweisen. Nach diesen Ergebnissen müßten inkomplette Antikörper bei der ABO-Erythroblastose eine wesentliche Rolle spielen. Nach orientierenden Untersuchungen konnten sowohl weder mit dem Test nach COHEN noch mit der Anti-Globulin-Kettenreaktion überzeugende Ergebnisse erzielt werden. Die Zahl der durchgeführten Versuche ist jedoch noch nicht ausreichend, um eine abschließende Beurteilung zu erlauben (ENGBRING und MATTHES, persönliche Mitteilung).

Die Beobachtung, daß in seltenen Fällen der direkte und indirekte AHG-Test positiv ausfällt, im allgemeinen aber höchstens schwach positiv ausfällt, läßt sich noch nicht ganz erklären. Man vermutet unter anderem eine schwache Bindung der Antikörper durch die noch nicht abgeschlossene Ausreifung der kindlichen Rezeptoren oder das Vorhandensein von Lysinen, die mit dem Antiglobulinserum nicht reagieren (SPIELMANN, 1951). Ein negativer AHG-Test sollte bei klinischem Ver-

dacht auf ABO-Erythroblastose und bei entsprechender Blutgruppenkonstellation stets an eine solche Erkrankung denken lassen (DOST, 1963).

Das schwächere Reagieren der Erythrocyten erkrankter Neugeborener mit Gruppen-Testseren läßt sich theoretisch als partielles Blocking-Phänomen deuten. Demzufolge müßten sich die blockierenden Isoantikörper durch Absprengung nachweisen lassen (WÖLLNER-PLÜCKTHUN, 1958). Dabei muß vorausgesetzt werden, daß die Antikörper so stark gebunden sind, daß sie beim Waschprozeß nicht verloren gehen. Versuche mit der Antikörperabsprengung als Erythroblastosediagnostikum sind dem Verfasser nur von WÖLLNER-PLÜCKTHUN (1958) und HUBINONT und Mitarbeitern (1960) bekannt.

Wie aus Tabelle 14 ersichtlich, waren bei der Antikörperabsprengung 5 Ansätze positiv, die anderen 3 negativ. Der Beweiswert der Antikörperabsprengung zur Diagnostik der ABO-Erythroblastose ist also auch nicht größer als bei anderen Methoden. Da dieses Verfahren außerdem spezielle Kenntnisse voraussetzt und die Durchführung eine erhebliche Zeit in Anspruch nimmt, ist es nur in Speziallaboratorien anwendbar. Bei dem benötigten Aufwand könnte dem Verfahren nur Bedeutung beigemessen werden, wenn es mit einer Zuverlässigkeit arbeiten würde, die mit einfacheren Methoden nicht erzielt werden kann.

Durch die Gegenüberstellung des Reaktionsausfalles von AB-Gamma-Test, Hämolysintest und AKA in den Tabellen 15 und 16 soll geklärt werden, ob diese Teste beim Vorliegen von Antikörpern den gleichen Reaktionsausfall zeigen. Wie Tabelle 15 zeigt, ist keine Beziehung zwischen Hämolysintest und AB-Gamma-Test, Hämolysintest und Antikörperabsprengung und auch AB-Gamma-Test und Antikörper-

absprengung festzustellen. Nach den Ergebnissen von SCHELLONG (1962) sind bei positivem AB-Gamma-Test gleichzeitig Hämolysine in hohem Titer nachzuweisen. Zwar liegt hier bei 2 Fällen mit positivem AB-Gamma-Test gleichzeitig eine komplette Hämolyse vor, jedoch ist in dem dritten Fall beim positiven AB-Gamma-Test keine Hämolyse nachzuweisen. Nach Tabelle 16 sind bei Frauen mit gesunden Kindern und positivem AB-Gamma-Test teilweise keine Hämolysine zu finden und teilweise sind nur mittlere Stärkegrade festzustellen. Umgekehrt ist auch bei positivem Hämolysintest der AB-Gamma-Test negativ.

Für die serologische Diagnose einer ABO-Erythroblastose scheiden die Titerbestimmung im Albumin- und Kochsalzmilieu, der direkte und indirekte AHG-Test aus. Die Antikörperabsprengung ist schwierig, zeitraubend und, was ausschlaggebend ist, die Ergebnisse sind nicht besser als beim einfacheren Hämolysintest. Außerdem setzt die Antikörperabsprengung voraus, daß Antikörper an Erythrocyten gebunden sind. Bei Hämolysinen kommt es jedoch beim Zusammentreffen der Antikörper mit dem Antigen zu einer intravasalen Hämolyse. Ist diese eingetreten, so ist ein Antikörpernachweis dadurch erschwert, daß die Erythrocyten, die die stärkste Antikörperbindung hatten, eliminiert sind.

Vergleicht man die Resultate von Hämolysintest und AB-Gamma-Test, so ist der Hinweis auf eine Erythroblastose beim Hämolysintest eher größer als beim AB-Gamma-Test. Allerdings ist der Hämolysintest häufiger unspezifisch positiv. Beide Teste sind nicht befriedigend, aber der AB-Gamma-Test ist gegenüber dem Hämolysintest sehr aufwendig und bietet nach den Untersuchungsergebnissen keinen

Vorteil gegenüber diesem. Ein Vorteil des Hämolysintestes liegt darin, daß seine Durchführung keine besonderen Kenntnisse auf serologischem Gebiet erfordert. Er gibt, auch wenn er keineswegs voll befriedigt, doch gewisse Hinweise, um die klinische Diagnose zu stützen und kann bei der Auswahl des Blutes für die Austauschtransfusion helfen.

Bisher gibt es noch keine Möglichkeit, die ABO-Erythroblastose serologisch zuverlässig nachzuweisen, da viele z. T. unbekannte Faktoren eine Rolle spielen. Es lassen sich oft Antikörper-Befunde im Sinne einer Immunisierung erheben, ohne daß klinische Anhaltspunkte für eine ABO-Erythroblastose vorliegen. Andererseits kann bei klinischen Anzeichen für eine ABO-Erythroblastose nicht immer der serologische Nachweis für diese Erkrankung erbracht werden.

Zusammenfassung

Das Blut von 52 Schwangeren, 11 Kindern mit klinisch gesicherter ABO-Erythroblastose (Morbus haemolyticus neonatorum im ABO-System) und deren Mütter wurde serologisch untersucht. Dabei wurden folgende Teste angewendet: Hämolysintest, Titerbestimmung im Albumin- und Kochsalzmilieu, AB-Gamma-Globulin-Neutralisationstest (FISCHER), direkter und indirekter Anti-Human-Globulin-Test und Antikörperabsprengung.

Es wurde versucht, zwischen den einzelnen Methoden einen Vergleich zu ziehen in Hinsicht auf ihre Verwendungsfähigkeit und Aussagekraft. Wie schon andere Autoren angegeben haben, sind der direkte und indirekte Anti-Human-Globulin-Test und die Titerbestimmung im Albumin- und Kochsalzmilieu für die serologische Diagnose der ABO-Erythroblastose ungeeignet. Die Auswertung der Titerdifferenz zwischen Agglutinations- und Konglutinationstiter ist nur sehr bedingt verwertbar. Keine überzeugenden Resultate konnten mit dem AB-Gamma-Test (FISCHER) erzielt werden, der außerdem auch bei Müttern mit nicht erkrankten Kindern positiv ausfiel. Auch durch die Antikörperabsprengung werden nicht alle Erythroblastosefälle erfaßt. Eine positive Reaktion bei ABO-Erythroblastose zeigte der Hämolysintest. Die Beweiskraft dieses Nachweises erfährt dadurch eine Einschränkung, daß er auch bei Müttern mit gesunden Kindern positiv sein kann. Um eigene Zahlen für die Verteilung der Hämolysine zu gewinnen, wurde der Hämolysintest bei 400

Blutspendern durchgeführt. Betrachtet man den Zeit- und Materialaufwand und die erforderlichen serologischen Kenntnisse, so sind diese bei der Antikörperabsprengung und dem AB-Gamma-Test ungemein höher als beim Hämolysintest. Der Hämolysintest hat sich bis jetzt als besonders einfache Methode für den Nachweis der ABO-Erythroblastose erwiesen und ist den aufwendigeren Untersuchungen bei klinischem Verdacht auf eine ABO-Erythroblastose nicht unterlegen.

Literaturverzeichnis

Adelmann, M., Bell, D. W. J., Giunta, F., Barret, J. T., Bellin, L. B., Appleton, R. and Providence, R. I.: Practical management of erythroblastosis fetalis in a community hospital. J. amer. med. Ass. **169** (1959)

Blumenthal, G. und Bickerich, R.: Ein Vorschlag zur Herstellung von hochwertigem Antiglobulinserum. Blut **1** (1955)

Boroviczeny, K. G. und Ballo, T.: Normoblasten im Blutbild des Neugeborenen. Wien. Z. inn. Med. **38** (1957)

Brion, A. et Goret, P.: Les échanges immunitaires entre la mère et le foetus ou le nouveau-né. Conséquences et applications à l'étiologie et à la pathogénie de l'ictére hémolytique du muleton et du poulain. Rev. Immunol. **13** (1949)

Bruner, D. W., Hull, E. F. and Doll E. R.: The relation of blood factors to icterus in foals. Amer. J. Veterinary Res. **9** (1948)

Cohen, I. and Nelken, D.: A Two-Stage Antiglobulin Test for the Detection of ABO-Hemolytic Disease of the newborn. Transfusion **4** (1964)

Crawford, H., Cutbush, M. and Mollison, P. L.: Haemolytic disease of the newborn due to anti-A. Blood **8** (1953)

Creger, W. P., Steele, M. R.: Human fetomaternal passage of erythrocytes. New. Engl. J. Med. **256** (1957)

Dahr, P. und Knüppel, H.: Ein erbliches Blutgruppensystem beim Kaninchen mit wahrscheinlichen Beziehungen zum Kaninchenhydrops. Klin. Wschr. **25** (1947)

Diamond, L. K.: Replacement transfusion as a treatment for erythroblastosis fetalis. Pediatrics **2** (1948)

Diamond, L. K., Blackfan, K. D. and Baty, J. M.: Erythroblastosis fetalis and its associtation with universal edema of the fetus, icterus gravis neonatorum and anemia of the newborn. J. Pediat. **1** (1932)

Dost, H.: Pädiatrische Aspekte beim M. h. n. aus Kepp, R. – Oehlert, G.: Aktuelle Probleme des M. h. n. (Enke Stuttgart, 1963)

Fischer, K. und Lurati, M.: Eine Methode zur Unterscheidung natürlich vorkommender Antikörper von Immunantikörpern für die Diagnose der ABO-Erythroblastose („AB-Gamma-Test"). Klin. Wschr. **37** (1959)

Fischer, K.: Diagnose und Therapie der fetalen Erythroblastose des ABO-Systems unter Berücksichtigung einer neuen Untersuchungsmethode. Mschr. Kinderheilk. **107** (1959)

Fischer, K.: Morbus haemolyticus neonatorum im ABO-System. 1. Aufl. (Thieme, Stuttgart, 1961)

Freda, V. J.: ABO(H)blood group substances in the human maternal-fetal barrier and amniotic fluid. Amer. J. Obstet. Gynec. **76** (1958)

Gierke, E. v.: Über fetale Bluterkrankungen. Klin. Wschr. **10** (1931)

Gierke, E. v.: Über Icterus gravis neonatorum und Hydrops congenitus. Zbl. Gynäk. **57** (1933)

Habermann, S., Krafft, C. J., Luecke, P. and Peach, R. O.: ABO isoimmunization: the use of the specific Coombs and elution tests in the detection of haemolytic disease. J. Pediat. **56** (1960)

Hirszfeld, L. und Zborowski, H.: Gruppenspezifische Beziehungen zwischen Mutter und Frucht und elektive Durchlässigkeit der Placenta. Klin. Wschr. **4** (1925)

Hirszfeld, L. und Zborowski, H.: Über die Grundlagen des serologischen Zusammenlebens zwischen Mutter und Frucht. Klin. Wschr. **5** (1926)

Hoffbauer, H.: Die Bedeutung von Fruchtwasseruntersuchungen für die Diagnose und Therapie des M. h. n. Zbl. Gynäk. **78** (1956)

Holländer, L.: Zur Frage des Morbus haemolyticus des Neugeborenen, verursacht durch Anti-A oder Anti-B. Geburtsh. Frauenheilk. **18** (1958)

Hoppe, H. H. und Wienke, H.: Systematische Blutgruppen- und Antikörperuntersuchungen bei Schwangeren. Geburtsh. Frauenheilk. **16** (1956)

Hsia, D. Y. and Gellis, S. S.: Studies on erythroblastosis due to ABO-incompatibility. Pediatrics **13** (1954)

Hubinont, P. O., Bricoult, A. and Ghysdael, P.: ABO-motherinfant incompatibilities. Amer. J. Obstet. Gynec. **79** (1960)

Jungwirth, J.: Beobachtungen über den Placentarübertritt der menschlichen Isoantikörper des ABO-Blutgruppensystems mit besonderer Berücksichtigung der Hämolysine. Blut **1** (1955)

Kayser, H. W.: Das Erythroblastoseproblem. Med. Klin. **49** (1955)

Kepp, R. und Oehlert, G.: Aktuelle Probleme des Morbus haemolyticus neonatorum. (Enke, Stuttgart, 1963)

Künzer, W.: Leitsymptom: Das gelbe Kind. Münch. med. Wschr. **101** (1959)

Landsteiner, K. and Wiener, A. S.: An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for Rhesus blood. Proc. Soc. exp. Biol. (NY) **43** (1940)

Lehndorff, H.: Anaemia neonatorum. Ergebn. inn. Med. **52** (1937)

Levine, P. and Stetson, R. E.: An unusual case of intragroup agglutination. J. Amer. Med. Ass. **113** (1939)

Levine, P., Burnham, L., Katzin, E. M. and Vogel, P.: The role of isoimmunisation in the pathogenesis of erythroblastosis fetalis. Amer. J. Obstet. Gynec. **42** (1941)

Levine, P.: Hemolytic disease due to antibodies other than Anti-D. Rev. d. Hämatol. **10** (1955)

Matthes, M.: Persönliche Mitteilung

Morhardt, P. E.: Un nouveau syndrom, la pancréatite kystique congénitale et le facteur rhésus. Presse méd. **55** (1947)

Nachtsheim, H. und Klein, H.: Hydrops congenitus universalis beim Kaninchen, eine erbliche fetale Erythroblastose. Abhandl. dtsch. Akad. Wiss., Berlin, Mathem. naturwiss. Kl. **5** (1947)

Polayes, S. H.: Erythroblastosis fetalis in mothers with Rh-positive blood: Report on six cases with comment on isoimmunization with the „A" and „B" agglutinogens. Amer. J. Dis. Child. **69** (1945)

Preisler, O., Gronau, M. und Horstmann, W.: Morbus haemolyticus neonatorum und spätere Entwicklung der Kinder. Dtsch. med. Wschr. **38** (1963)

Rasch, L. H.: Lehrbuch der Blutgruppenkunde (Walter de Gruyter u. Co., Berlin, (1954)

Rautmann, H.: Über Blutbildung bei foetaler allgemeiner Wassersucht. Beitrag path. Anat. **54** (1912)

Reepmaker, J. and Loghem, J. J. v.: Anti-A and anti-B immune antibodies in pregnancy. Vox Sang. (Basel) **3** (1953)

Robinson, C. G., Dunn, H. G. and Wong, L. C.: Observations on ABO incompatibility between mother and infant. Acta paediat. **48**, Suppl. **120** (1960)

Rosenfield, R. E.: A-B hemolytic disease of the newborn. Analysis of 1480 cord blood specimens with special reference to the direct antiglobulin test and to the group 0 mother. Blood **10** (1955)

Rosenfield, R. E. and Ohno, G.: AB hemolytic disease of the newborn. Rev. Hémat. **10** (1955)

Sabin, M. and Lowenstein, L.: Haemolytic disease of the newborn due to ABO isoimmunisation. Canad. med. Ass. J. **77** (1957)

Schaumkell, K. W.: Die klinische und serologische Beurteilung niederer mütterlicher Antikörpertiter im Rahmen des Erythroblastosegeschehens. Z. Geburtsh. Gynäk. **151** (1958)

Schellong, G.: Morbus haemolyticus neonatorum durch kombinierte Unverträglichkeit im ABO- und Rh-System. Mschr. Kinderheilk. **107** (1959)

Schellong, G.: Icterus neonatorum. Eine Studie über die physiologische Bilirubinaemie des Neugeborenen unter besonderer Berücksichtigung des ABO-Blutgruppensystems. Med. Habilitationsschrift, Münster (1960)

Schmorl, G.: Zur Kenntnis des Icterus neonatorum, insbesondere der dabei auftretenden Gehirnveränderungen. Verh. dtsch. Ges. Path. **6** (1904)

Schwenzer, A. W.: Die Erythroblastose im Lichte der neuen Rh-Forschung. (Dr. Dietrich Steinkopf, Darmstadt, 1953)

Schwenzer, A. W.: Die Diagnose einer ABO-bedingten Erythroblastose. Geburtsh. Frauenheilk. **4** (1958)

Spielmann, W.: Zur Pathogenese der Erythroblastose, dargestellt an A-immunisierten Müttern. Klin. Wschr. **29** (1951)

Tovey, A. D.: The incidence, distribution and life history of the anti-A and anti-B haemolysins in the general population. Vox Sang. **3** (1958)

Valentine, J. H.: ABO-incompatibility and haemolytic disease of the newborn. Arch. Dis. Child. **33** (1958)

Walker, C. B. V. and Dennis, H. G.: Anti-A haemolysin in group 0 blood donors. Brit. med. J. **12** (1959)

Wallerstein, H.: Treatment of severe erythroblastosis by simultaneous removal and replacement of blood of newborn infants. Science **103** (1946)

Wiener, A. S. and Wexler, J. B.: The use of heparin when performing exchange blood transfusions in newborn infants. J. Laborat. Clin. Med **31** (1946)

Wiener, A. S., Wexler, J. B. and Hurst, J. G.: The use of exchange transfusion for treatment of severe erythroblastosis due to AB-sensitation. Blood **4** (1949)

Wiener, A. S. und Wexler, J. B.: Erythroblastosis fetalis und Blutaustausch (Georg Thieme, Stuttgart, 1950)

Witebsky, E.: Interrelationship between the Rh-system and the AB-system. Blood **3** (1948)

Wöllner, D. und Plückthun, H.: Klinische und serologische Untersuchungen zur haemolytischen Neugeborenenerkrankung infolge ABO-Unverträglichkeit. Z. Kinderheilk. **81** (1958)

Zollinger, H.: zit. nach Dost, H.: Pädiatrische Aspekte beim M. h. n. in Kepp, R. und Oehlert, G.: Aktuelle Probleme des M. h. n. (Enke, Stuttgart, 1963)

Zuelzer, W. W. and Kaplan, E.: ABO heterospecific pregnancy and hemolytic disease. A study of normal and pathological variants. Amer. J. Dis. Child. **88** (1954)

Die vorliegende Arbeit wurde in den Laboratorien des Blutspendedienstes an den klinischen Universitätsanstalten, Dir. Prof. Dr. Dr. h. c. L. Heilmeyer, ausgeführt.

Herrn Akad. Rat Dr. M. Matthes, Leiter des Blutspendedienstes an den klinischen Universitätsanstalten, möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas sowie für die freundlich erteilten Ratschläge während der Arbeit herzlich danken.

Auch Frl. Tölle gebührt mein Dank, die mich zuvorkommend und gewissenhaft in die Arbeitsweisen der Serologie eingeführt hat.

Herrn Prof. Dr. Wimhöfer, Direktor der Universitäts-Frauenklinik Freiburg und Herrn Prof. Dr. Keller, ehem. Direktor der Universitäts-Kinderklinik, und deren Mitarbeitern sei für die Unterstützung und gute Zusammenarbeit herzlich gedankt.

Lebenslauf

Am 7. März 1938 wurde ich in Achern (Baden) als Sohn des Zahnarztes (vormals staatlich geprüfter Dentist) Artur Sigrist und dessen Ehefrau Maria Sigrist, geb. Staab, geboren. Meine Kindheit verbrachte ich in Lauf bei Bühl, wo ich auch seit 1944 die Volksschule besuchte. Die Ausbildung in der Volksschule war infolge der Nachkriegswirren mangelhaft. 1948 wechselte ich dann in die Heimschule Lender in Sasbach über, wo ich das Altsprachliche Gymnasium besuchte. Dort unterzog ich mich der Reifeprüfung, die ich im März 1957 bestand.

Nach dem Abitur immatrikulierte ich mich an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br. als Student der Zahnheilkunde. Nach 6 Semestern bestand ich dort die Zahnärztliche Vorprüfung im April 1960. Auch nach dem Physikum studierte ich weiterhin in Freiburg und schloß im Juli 1963 das Studium mit dem Zahnärztlichen Staatsexamen ab. Seit September 1963 arbeite ich als Assistent in der Praxis meines Vaters, wo ich auch heute noch beschäftigt bin. Diese Tätigkeit wurde unterbrochen durch eine Einberufung zur Bundeswehr von Juli bis Dezember 1964.